

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-259557

(43)Date of publication of application : 08.10.1996

(51)Int.Cl.

C07D311/60
A23L 3/3544
A61K 31/35
A61K 31/35
C12N 9/99

(21)Application number : 07-066612

(71)Applicant : LOTTE CO LTD

(22)Date of filing : 24.03.1995

(72)Inventor : OKUDA TAKUO

YOSHIDA TAKASHI

HATANO TSUTOMU

HASHIMOTO TOSHITAKA

YAMASHITA AKIKO

SHIMURA SUSUMU

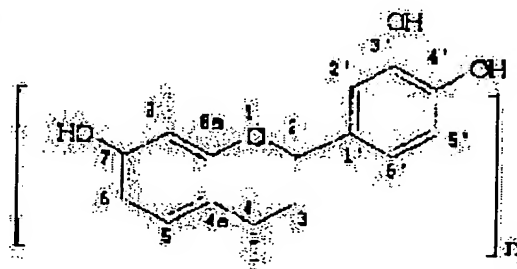
ITOU YOSHIO

(54) NEW TANNINS AND INHIBITOR TO LIPASE CONTAINING THE SAME AS ACTIVE INGREDIENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain new tannins, having remarkably high inhibiting activities to lipases and high safety and useful for the prevention of obesity based on inhibition of digestion and absorption of oils and fats, prevention and prophylaxis of diseases caused by the lipases, deterioration of foods, etc., and malodor.

CONSTITUTION: The tannins of the formula [(n) is an integer of ≥ 2] are obtained by extracting a fruit (legume) or a leaf of *Cassia mimosoides* var. *nomame* Makino, preferably the fruit thereof with a ketonic solvent (e.g. acetone), extracting the resultant extract with ether, treating the obtained extract according to column chromatography and purifying the treated extract, etc. The tannins have 1020 number-average molecular



THIS PAGE BLANK (USPTO)

weight and 1120 weight- average molecular weight and are a brown powder mainly comprising 4 monomers (preferably 3',4',7-trihydroxyflavan). The compound is capable of manifesting a light red color by a vanillin-hydrochloric acid method without detecting sugars by an anthrone-sulfuric acid method.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 11.12.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3532999

[Date of registration] 12.03.2004

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

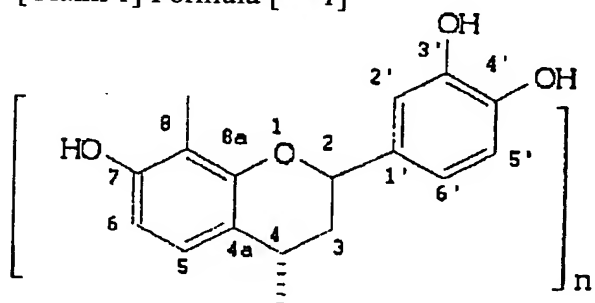
2. **** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

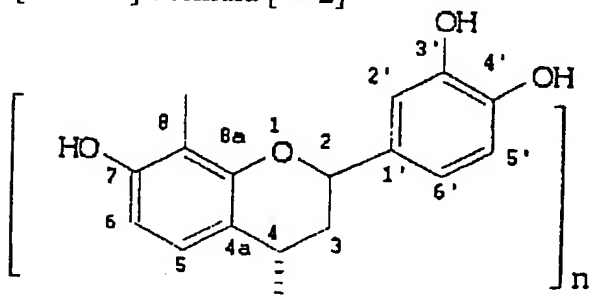
[Claim(s)]

[Claim 1] Formula [** 1]



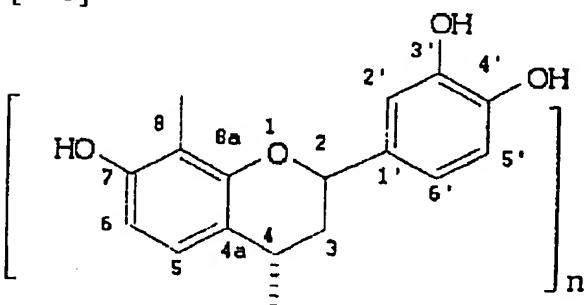
It is tannin expressed with (the inside of a formula and n are two or more integers).

[Claim 2] Formula [** 2]



It is the lipase inhibitor which makes an active principle the tannin expressed with (the inside of a formula and n are two or more integers).

[Claim 3] The formula characterized by extracting the ketone solvent extract of a cassia with the ether



It is the manufacture approach of tannin expressed with (the inside of a formula and n are two or more

THIS PAGE BLANK (USPTO)

integers).

[Translation done.]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the lipase inhibitor which makes new tannin and this new active principle.

[0002]

[Description of the Prior Art] Conventionally, obesity has the close relation with adult diseases, such as diabetes mellitus, and arteriosclerosis, hypertension, and serves as a big social problem in advanced nations. Usually, although obesity originates in superfluous intake of a calorie, since restricting the amount of meals requires the stress of excess, it is very difficult [it] to perform in everyday life.

[0003] Among food constituents, a fat (triglyceride) is a high calorie most and becomes the direct cause of obesity that a fat takes too much. It is decomposed by pancreatic lipase and a fat is absorbed from a small intestine. For this reason, work of this pancreatic lipase is checked conventionally, obesity is controlled or development of the drugs to prevent is tried.

[0004] For example, OKISETANON is indicated by the anti-obesity which uses polyethers as a component at JP,55-98114,A and a triglyceride reduction agent, and JP,61-152663,A, and diethyl p-nitrophenyl phosphate [Biochem.Biophys.Acta, 276 and 162 (1972), and tetrahydro RIPUSUTACHIN (Biochem.J., and [256, 357] (1988)) are reported as a lipase inhibitor. It is reported also about food or a crude drug component that extracts (the Meiji University agricultural department research report, and [69, 15] (1985)), such as various seeds and fruits, soybean protein (Agric.Biol.Chem., and [37, 1225] (1973)), cereals protein (Nutrition Reports International, and [32, 1107] (1985)), and Japanese radish seed-protein [a Japanese food-stuff-industry society magazine and 35,430 (1988)] check lipase activity. [0005] Furthermore, hemicellulose [J. There is also a report of the lipase activity inhibition effectiveness by the phosphatidylcholine (the Meiji University agricultural department research report, and [73, 9] (1986)) of Food Sci., 49,956(1984)], wheat wheat bran [Am.J.Clin.Nutr., 42,629 (1985)], and a Japanese radish seed etc.

[0006] Moreover, the lipid absorption control food (JP,3-228664,A) which blends the epigallocatechin gallate which is the main components in the specific component (JP,1-102022,A) of oolong tea, a green pepper, a Japanese pumpkin, a Shimeji mushroom, maitake mushrooms, edible brown algae, green tea, tea, and the lipase inhibitor (JP,3-219872,A) which consists of a water extract of oolong tea and green tea is indicated.

[0007] Thing [J. from which the extract (tannin) of the thing [British J.Nutrition, 60,275(1988)], and beans (Fiel bean) with which the tannin of feed vegetation checks lipase, an amylase, and a protease prevents lipase with tannin on the other hand Sci.Food Agric. and 30,458(1979)] are known.

[0008] Furthermore, by tannin, there is an operation to which 4-G 0-galloyl quinic acid (JP,60-50778,B) and the 3'-0-galloyl delphinidin B-2 (JP,60-11912,B), and 4'-6'-galloyl SARIDOROSHIDO (galloylsalidoside) (JP,63-53993,B) are announced publicly as new tannin, combine with enzyme protein, and reduce the activity, and the application as a metabolic regulation agent is shown.

[0009] Crude drug Angelica pubescens, Alpiniae officinari rhizoma, dried myrica, SAMPENZU, and the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

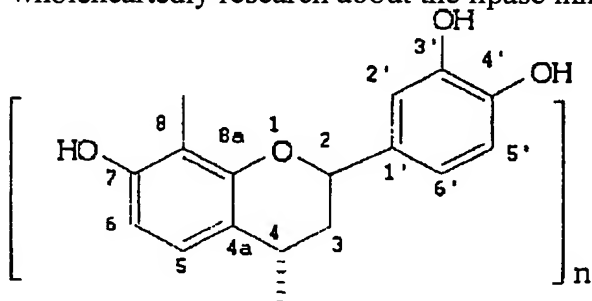
lipase inhibitor of the extract of a cassia seed are indicated by JP,5-255100,A further again. In addition, SAMPENZU is a vegetation name cassia (*Cassiamimosoides* L.var.nomame Makino=*Cassia nomame* Honda) in this, and this invention person etc. shows clearly that two new tannin (flavan-catechin dimer) contains in the cassia, and does patent application of the use as a metabolic turnover improvement agent (Japanese Patent Application No. No. 210068 [five to]), and is doing patent application of the use as a lipase inhibitor of flavonoids (Japanese Patent Application No. No. 210067 [five to]). However, by the time these new flavan-catechin dimers acquire still more sufficient lipase inhibition activity, they will not have resulted.

[0010]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] Therefore, the purpose of this invention is that lipase inhibition activity obtains new, notably high tannin.

[0011]

[Means for Solving the Problem] this invention person etc. is a formula [** 4] as a result of the wholeheartedly research about the lipase inhibition active ingredient of a cassia.



It found out that the new tannin expressed with (the inside of a formula and n are two or more integers) was effective.

[0012] Although it is the new compound group contained in a legume cassia, it limits to a cassia, and this application tannin is not contained, and it can be extracted, other vegetation, for example, acacia group vegetation, and this object can be compounded chemically and it can also obtain it.

[0013] There are various the extract approaches of this application tannin from a cassia. As the typical extract approach, the ether extracts next the fruits (** and **) of a cassia, a leaf, and the extract that extracted fruits by ketone solvent, for example, an acetone, preferably, and there is a method of carrying out column-chromatography processing, for example, and refining the obtained extract.

[0014] As ketone solvent used for an extract, heterocycle type ketones other than an acetone, such as aromatic ketone, such as alicyclic ketones, such as partial saturation ketones, such as aliphatic series saturation ketones, such as ethyl methyl ketone, methyl propyl ketone, and butyl methyl ketone, a methyl vinyl ketone, and methylheptenone, a cyclohexanone, and cyclopentanone, an acetophenone, and a benzophenone, and aceto CHIENON, are mentioned, and these are used as these water solutions and an alcoholic solution as occasion demands as they are.

[0015] Moreover, as the ether to be used, the ring type ether, such as the aromatic series ether, such as the aliphatic series partial saturation ether, such as aliphatic series mixed ether, such as the aliphatic series single ether, such as ethyl ether, the propyl ether, and butyl ether, the methylethyl ether, and the methylpropyl ether, vinyl ether, and the allyl compound ether, an anisole, and phenyl benzyl ether, ethylene oxide, and a tetrahydrofuran, is mentioned.

[0016] Thus, this invention tannin which is the obtained purification object is the powder of the blackish brown of a pro anthocyanidin fraction which has number average molecular weight 1020 and weight average molecular weight 1120. These tannin is the new reference polymerization objects which are not indicated [in which the monomer carried out the two or more piece polymerization], as expressed with the above-mentioned formula, and especially as for polymerization degree, that upper limit is not defined.

[0017] This invention tannin has remarkable lipase activity inhibitory action, and this can be used

THIS PAGE BLANK (USPTO)

combining the lipase inhibitor of independent or others. Furthermore, it may be diluted and used with a suitable solvent, or it may be used for the shape of a paste, powder, a tablet, or granularity, pharmaceutical-preparation-izing to it, and this invention tannin can also be used for food etc., mixing for it beforehand.

[0018] In addition, it is recognized that this invention tannin can be used for other applications, such as a tanning of a hide, only as a lipase inhibitor.

[0019] Below, the example of this invention is given and explained.

[0020]

[Example]

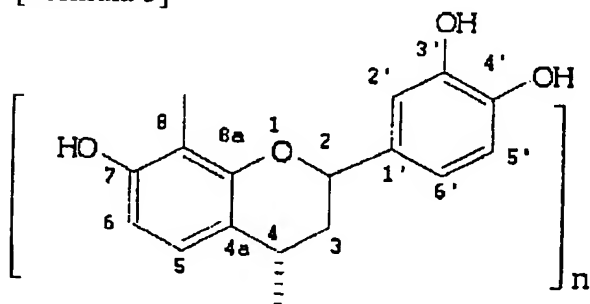
example 1: -- separation and description of tannin -- the acetone extracted 100g of fruits of a cassia 70%, reduced pressure extracted with ethyl ether after distilling off an acetone, and 4.1g of ether extracts was obtained. 3.8g of the obtained ether extract -- Toyo Perl HW40 column (ϕ 2.2x40cm) -- offering -- 70% ethanol -- being eluted -- the following -- 256mg of fractions which show description was extracted.

[0021] This component is blackish brown powder, acetylation significant work average molecular weight is 1020 (weight average molecular weight 1120) (GPC), and that which takes the lead was constituted by four monomers. Moreover, vanillin-salt acid process [J. Sci. Food Agric. and 29,788 (1978)] showed a pale red color, and the sugar by the anthrone sulfuric-acid method [a protein nucleic-acid enzyme, a separate volume, p13 (1968), and KYORITSU SHUPPAN] was not detected.

[0022] It became clear that it was tannin which makes a configuration monomer 3' and 4' which are shown in drawing 1, and 7-trihydroxy flavan as a result of the analysis of the ^{13}C -NMR spectrum of this component. This matter is new reference non-indicated tannin.

[0023] ^{13}C -NMR(acetone- d_6 + D_2O): δ 31-35 (C-4), 35-38 (C-3), 75-80 (C-2), 102-110 (C-6, 8), 113-115 (C-2'), 115-117 (C-5'), 117-120 (C-6', 4a), 128-132 (C-5), 133-135 (C-1'), 144-146 (C-3', 4'), 151-157 (C-7, 8a) [0024]

[Formula 5]



(The inside of a formula and n are two or more integers)

[0025] Example 2: Measurement of the measurement lipase activity of a lipase activity measurement method and the inhibition effectiveness used the oleate (4-MUO) of the 4-methylumbelliferone of fluorescence for the substrate, and was carried out by measuring the fluorescence of the 4-methylumbelliferone generated by the reaction.

[0026] 4-MUO suspension 100microl which is a substrate, Buta pancreatic lipase (product made from Sigma) solution 50microl, and 50micro of buffer solutions I are taken in a small test tube, and, finally it is 4-MUO. It was made to react for 20 minutes at 37 degrees C on condition that 0.05mM and Buta pancreatic lipase 2.2microg and the maqui RUBAIN buffer solution (pH7.4). After having added 1ml of 0.1-N hydrochloric acids, having stopped the reaction, adding 2ml of 0.1M sodium citrates and making pH of a solution into the 4.3 neighborhoods, the fluorescence (excitation wavelength of 320nm, fluorescence wavelength of 450nm) of the 4-methylumbelliferone generated by the reaction was measured with the fluorophotometer.

[0027] Measurement of the inhibition effectiveness made 5micro of 50% tetrahydrofuran (THF) solutions I of a sample add and react to this system of reaction. Contrast added and made only THF react

THIS PAGE BLANK (USPTO)

50% by sample additive-free. The amount IC 50 (μg/ml) of samples which checks the activity of contrast 50% showed the inhibition effectiveness.

[0028] Example 3: By the approach of the lipase inhibition effectiveness example 2 of this invention tannin, the effectiveness over the lipase activity of the crude extract of a cassia and this invention tannin was investigated.

[0029] Preparation of a cassia crude extract was carried out to the examples 1-2 of JP,5-255100,A according to the approach of a publication. That is, the dry cassia was ground, to the grinding object, the hexane of an amount was added 5 times and extract cleaning was carried out on the 1st, and after adding the tetrahydrofuran of an amount 5 times and extracting this extract residue after suction desiccation on the 1st, it filtered, suction desiccation of the filtrate was carried out, and it considered as the extract.

[0030] In addition, measurement was presented with what was prepared in the example 1 about this invention tannin.

[0031] Although the result was shown in drawing 1, in the cassia crude extract, IC50 was about 3.8μg/ml.

[0032] On the other hand, with this invention tannin, it is 0.34μg/ml, and the remarkable inhibition effectiveness of being about 11 times many as this was shown as compared with the extract.

[0033]

[Effect of the Invention] It will be as follows if the effectiveness of this invention tannin is mentioned.

[0034] 1) Check the activity of lipase notably. The thing of the effectiveness of the cassia crude extract indicated by JP,5-255100,A high 11 or more times is clear.

[0035] 2) It is the compound contained in the vegetable cassia which was not invented by chemosynthesis and has been drunk more in ancient times as tea, and safety is high.

[0036] 3) It can use for degradation of the obesity prevention based on inhibition of the digestion of fats and oils, the disease resulting from lipase, food, etc., etc., prevention of an offensive odor, and prevention.

[Translation done.]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is the characteristic ray Fig. showing the lipase inhibition effectiveness of this invention tannin and a cassia crude extract.

[Translation done.]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

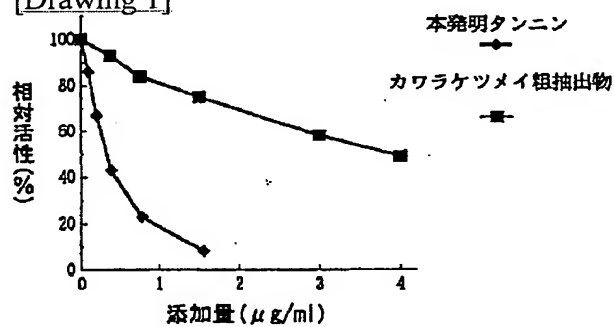
* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]



[Translation done.]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-259557

(43)公開日 平成8年(1996)10月8日

(51)Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 311/60			C 0 7 D 311/60	
A 2 3 L 3/3544			A 2 3 L 3/3544	
A 6 1 K 31/35	ACN		A 6 1 K 31/35	ACN
	AED			AED
C 1 2 N 9/99			C 1 2 N 9/99	
審査請求 未請求 請求項の数3 OL (全 5 頁)				

(21)出願番号 特願平7-66612

(22)出願日 平成7年(1995)3月24日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成7年3月5日
日本薬学会第115年会組織委員会発行の「日本薬学会第
115年会講演要旨集」に発表

(71)出願人 390002990
株式会社ロッテ
東京都新宿区西新宿3丁目20番1号

(72)発明者 奥田 拓男
岡山県岡山市津島中1-1-1 岡山大学
薬学部内

(72)発明者 吉田 隆志
岡山県岡山市津島中1-1-1 岡山大学
薬学部内

(72)発明者 波多野 力
岡山県岡山市津島中1-1-1 岡山大学
薬学部内

(74)代理人 弁理士 浜田 治雄

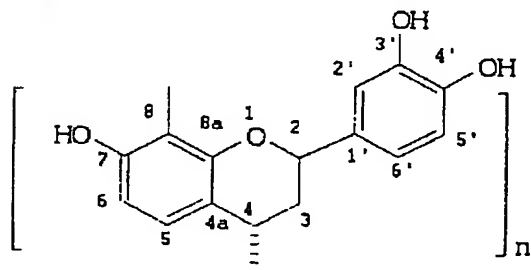
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規なタンニン類およびこれを有効成分とするリパーゼ阻害剤

(57)【要約】 (修正有)

【目的】 リパーゼ阻害活性が顕著に高い新規なタンニン類を提供する。

【構成】 式



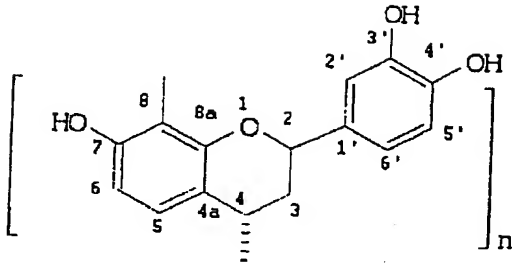
(式中、nは2以上の整数である)で表されるタンニン類、ならびにカワラケツメイから抽出、精製することによりなる当該タンニン類の製造方法。

【効果】 安全性が高く、リパーゼの活性を顕著に阻害する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式

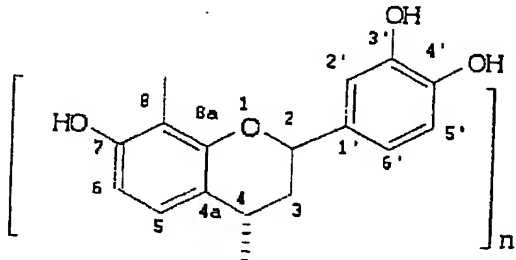
【化1】



(式中、nは2以上の整数である)で表されるタンニン類。

【請求項2】 式

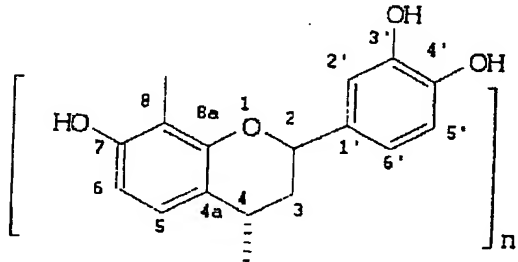
【化2】



(式中、nは2以上の整数である)で表されるタンニン類を有効成分とするリパーゼ阻害剤。

【請求項3】 カワラケツメイのケトン系溶媒抽出物をエーテルで抽出することを特徴とする式

【化3】



(式中、nは2以上の整数である)で表されるタンニン類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、新規なタンニン類およびこれを有効成分とするリパーゼ阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、肥満は糖尿病や動脈硬化、高血圧等の成人病と密接な関わりがあり、先進諸国では大きな社会問題となっている。通常、肥満はカロリーの過剰摂取に起因するが食事量を制限することは過度のストレス

(2)

特開平8-259557

2

がかかることから、日常生活で実行することは非常に困難である。

【0003】食品成分の内、脂肪(トリグリセリド)は最も高カロリーであり、脂肪の取り過ぎは肥満の直接的な原因となる。脂肪は膵リパーゼにより分解されて小腸より吸収される。このため、従来よりこの膵リパーゼの働きを阻害して肥満を抑制したり、予防する薬剤の開発が試みられている。

【0004】例えば、特開昭55-98114号公報にはポリエーテル類を成分とする抗肥満及びトリグリセリド減少剤、特開昭61-152663号にはオキセタン類が開示され、またリパーゼ阻害剤としてジエチルp-ニトロフェニルホスフェート[Biochem. Biophys. Acta, 276, 162(1972)]およびテトラヒドロリブスタチン[Biochem. J., 256, 357(1988)]が報告されている。食品や生薬成分についても種々の種子や果実等の抽出物[明治大学農学部研究報告、69, 15(1985)]、大豆タンパク質[Agric. Biol. Chem., 37, 1225(1973)]、穀類タンパク質[Nutrition Reports International, 32, 1107(1985)]、大根種子タンパク質[日本食品工業学会誌、35, 430(1988)]がリパーゼ活性を阻害することが報告されている。

【0005】さらに、ヘミセルロース[J. Food Sci., 49, 956(1984)]、小麦ふすま[Am. J. Clin. Nutr., 42, 629(1985)]および大根種子のフォスファチジルコリン[明治大学農学部研究報告、73, 9(1986)]等によるリパーゼ活性阻害効果の報告もある。

【0006】また、ウーロン茶の特定成分(特開平1-102022号)、ピーマン、かぼちゃ、しめじ、まいたけ、ひじき、緑茶、紅茶、ウーロン茶の水抽出物からなるリパーゼ阻害剤(特開平3-219872号)や緑茶中の主要な成分であるエピガロカテキンガレートを配合する脂質吸収抑制食品(特開平3-228664号)が開示されている。

【0007】一方、タンニン類では、飼料植物のタンニン類がリパーゼ、アミラーゼ、プロテアーゼを阻害すること[British J. Nutrition, 60, 275(1988)]および豆(Fiel bean)の抽出物(タンニン)がリパーゼを阻害すること[J. Sci. Food Agric., 30, 458(1979)]が知られている。

【0008】さらに、タンニン類では4-ジ-0-ガロイルキナ酸類(特公昭60-50778号公報)および3'-0-ガロイルデルフィニジンB-2(特公昭60-11912号公報)、4'-6'-ガロイルサリドロシド(galloylsalidroside)(特公

昭63-53993号公報)が新規タンニンとして公示され、酵素タンパク質と結合してその活性を低下させる作用があり、代謝調節剤としての用途が示されている。

【0009】さらにまた、特開平5-255100号公報には、生薬ドクカツ、リョウキョウ、ヨウバイヒ、サンベンズおよびケツメイシの抽出物のリパーゼ阻害剤が開示されている。なお、この中でサンベンズは植物名カワラケツメイ (*Cassiamimosoides* L. var. *nomame* Makino = *Cassia nomame* Honda) であり、本発明者等はカワラケツメイには2つの新規タンニン(フラバン-カテキン2量体)が含有されていることを明らかにして代謝改善剤としての利用を特許出願し(特願平5-210068号)、またフラボノイド類のリパーゼ阻害剤としての利用を特許出願している(特願平5-210067号)。しかしながら、これらの新規なフラバン-カテキン2量体は、なお十分なリパーゼ阻害活性を得るまでには至っていない。

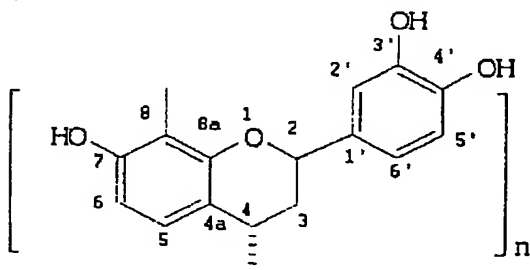
【0010】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、リパーゼ阻害活性が顕著に高い新規なタンニン類を得ることである。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、カワラケツメイのリパーゼ阻害活性成分について鋭意研究の結果、式

【化4】



(式中、nは2以上の整数である)で表される新規なタンニン類が有効であることを見出した。

【0012】本願タンニン類は、マメ科植物カワラケツメイに含有される新規な化合物群であるが、この物はカワラケツメイに限定して含有されているものではなく、他の植物、例えばアカシア族植物からも抽出することができ、また化学的に合成して得ることもできる。

【0013】カワラケツメイからの本願タンニン類の抽出方法は種々ある。代表的な抽出方法としてはカワラケツメイの果実(さや果)、葉、好ましくは果実をケトン系溶媒、例えばアセトンで抽出した抽出物を、次にエーテルにて抽出し、得られた抽出物を、例えばカラムクロマトグラフィー処理して精製する方法がある。

【0014】抽出に使用するケトン系溶媒としては、ア

セトンの他に例えばエチルメチルケトン、メチルプロピルケトン、ブチルメチルケトン等の脂肪族飽和ケトン、メチルビニルケトン、メチルヘブテノン等の不飽和ケトン、シクロヘキサノン、シクロペンタノン等の脂環式ケトン、アセトフェノン、ベンゾフェノン等の芳香族ケトン、アセトチエノン等の複素環式ケトンが挙げられ、これらをそのまま、必要によりこれらの水溶液、アルコール溶液として使用する。

【0015】また、使用するエーテルとしてはエチルエーテル、プロピルエーテル、ブチルエーテル等の脂肪族単一エーテル、メチルエチルエーテル、メチルプロピルエーテル等の脂肪族混成エーテル、ビニルエーテル、アリルエーテル等の脂肪族不飽和エーテル、アニソール、フェニルベンジルエーテル等の芳香族エーテル、酸化エチレン、テトラヒドロフラン等の環式エーテルが挙げられる。

【0016】このようにして得られた精製物である本発明タンニン類は、数平均分子量1020、重量平均分子量1120を有するプロアントシアニジン画分の茶褐色の粉末である。このタンニン類は、上記式で表されるようにモノマーが2個以上重合した文献未記載の新規な重合物であり、重合度はその上限を特に定めない。

【0017】本発明タンニン類には、顕著なリパーゼ活性阻害作用があり、これを単独もしくは他のリパーゼ阻害剤と組合わせて使用できる。さらに、本発明タンニン類は、適当な溶媒で希釈して使用しても、ペースト状、粉末状、錠剤あるいは顆粒状に製剤化して使用してもよく、また食品等に予め混合して使用することも可能である。

【0018】なお、本発明タンニン類はリパーゼ阻害剤としてのみならず、例えば皮のなめし等、他の用途にも使用できることが認識される。

【0019】以下に、本発明の実施例を挙げて説明する。

【0020】

【実施例】

実施例1：タンニンの分離と性状

カワラケツメイの果実100gを70%アセトンで抽出し、減圧によりアセトンを留去後、エチルエーテルにて抽出し、エーテル抽出物4.1gを得た。得られたエーテル抽出物の3.8gをトヨパールHW40カラム(φ2.2×40cm)に供し、70%エタノールで溶出して下記性状を示す画分256mgを採取した。

【0021】本成分は茶褐色の粉末で、アセチル化物の数平均分子量は1020(重量平均分子量1120)であり(GPC)、中心となるものはモノマー4個により構成されていた。また、バニリン-塩酸法[J. Sci. Food Agric., 29, 788(1978)]で淡赤色を示し、アントロン硫酸法[蛋白質核酸酵素、別冊、p13(1968)、共立出版]による糖

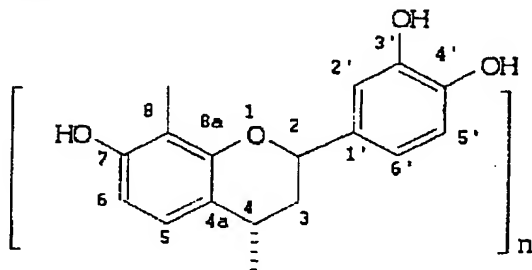
は検出されなかった。

【0022】本成分の ^{13}C -NMRスペクトルの解析の結果、図1に示す3', 4', 7-トリヒドロキシフラバンを構成モノマーとするタンニンであることが判明した。本物質は文献未記載の新規タンニンである。

【0023】 ^{13}C -NMR (acetone- d_6 + D $_2$ O) : δ 31-35(C-4), 35-38(C-3), 75-80(C-2), 102-110(C-6, 8), 113-115(C-2'), 115-117(C-5'), 117-120(C-6', 4a), 128-132(C-5), 133-135(C-1'), 144-146(C-3', 4'), 151-157(C-7, 8a)

【0024】

【化5】



(式中、nは2以上の整数である)

【0025】実施例2：リパーゼ活性測定法および阻害効果の測定

リパーゼ活性の測定は、基質に蛍光性の4-メチルウンベリフェロンのオレイン酸エステル(4-MUO)を使用し、反応によって生成した4-メチルウンベリフェロンの蛍光を測定することにより実施した。

【0026】小試験管に基質である4-MUO懸濁液100 μ l、ブタ臍リパーゼ(Sigma社製)溶液50 μ l、緩衝液50 μ lを採り、最終的に4-MUO 0.05mM、ブタ臍リパーゼ2.2 μ g、マッギルバイン緩衝液(pH7.4)の条件にて37 $^{\circ}\text{C}$ で20分間反応させた。0.1N塩酸1mlを添加して反応を停止させ、0.1Mクエン酸ナトリウムを2ml添加して溶液のpHを4.3付近とした後、反応によって生成した4-メチルウンベリフェロンの蛍光(励起波長320nm、蛍光波長450nm)を蛍光光度計により測定した。

【0027】阻害効果の測定は本反応系に試料の50% 40

テトラヒドロフラン(THF)溶液5 μ lを添加して反応させた。対照は試料無添加で50%THFのみを添加して反応させた。阻害効果は対照の活性を50%阻害する試料量 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)で示した。

【0028】実施例3：本発明タンニン類のリパーゼ阻害効果

実施例2の方法で、カワラケツメイの粗抽出物と本発明タンニンのリパーゼ活性に対する効果を調べた。

【0029】カワラケツメイ粗抽出物の調製は、特開平5-255100号公報の実施例1~2に記載の方法に準じて行った。即ち、乾燥したカワラケツメイを粉碎し、粉碎物に対し5倍量のヘキサンを加えて1日抽出脱脂し、この抽出残渣を吸引乾燥後、5倍量のテトラヒドロフランを加えて1日抽出した後、濾過し、濾液を吸引乾燥して抽出物とした。

【0030】なお、本発明タンニンについては、実施例1で調製したものを測定に供した。

【0031】結果を図1に示すが、カワラケツメイ粗抽出物では IC_{50} は約3.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

【0032】一方、本発明タンニンでは、0.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、抽出物に比較して約11倍の顕著な阻害効果を示した。

【0033】

【発明の効果】本発明タンニン類の効果を挙げれば次の通りである。

【0034】1)リパーゼの活性を顕著に阻害する。その効果は、特開平5-255100号公報に開示されたカワラケツメイ粗抽出物の11倍以上高いことが明らかである。

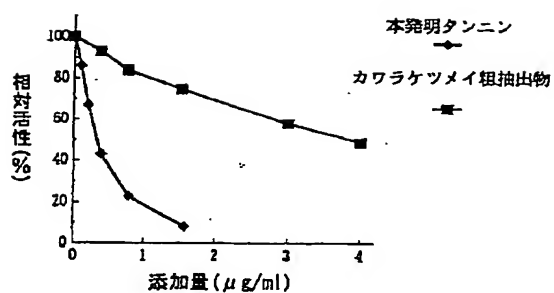
【0035】2)化学合成により創製されたものでなく、お茶として古くより飲用されて来た植物カワラケツメイに含有されている化合物であり、安全性の高いものである。

【0036】3)油脂の消化吸収の阻害に基づく肥満防止や、リパーゼに起因する疾患、食品等の劣化、悪臭の予防、防止に利用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明タンニンとカワラケツメイ粗抽出物のリパーゼ阻害効果を示す特性線図である。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 橋本 壽崇

岡山県岡山市津島中1-1-1 岡山大学
薬学部内

(72)発明者 山下 暁子

岡山県岡山市津島中1-1-1 岡山大学
薬学部内

(72)発明者 志村 進

埼玉県浦和市沼影1-23-6

(72)発明者 伊東 禮男

東京都清瀬市野塩3-26-11

THIS PAGE BLANK (USPTO)